云南植物研究 2007，29 (6)：671～676
Acta Botanica Yunnanica

# ESI-MS/MS方法检测拟南芥膜脂分子对机械伤害的响应*

凌立贞[1,2,3]，李唯奇[3,4]**，徐正君[1,2]**

(1 四川农业大学 水稻研究所，四川 温江 611130；2 四川农业大学西南作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室，四川 雅安 625014；3 中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204；4 红河学院生物系，云南 蒙自 661100)

**摘要**：利用一种灵敏的、基于ESI-MS/MS (electrospray ionization tandem mass spectrometry) 的脂类组学方法，测定了机械伤害诱导的拟南芥6种磷脂 (phospholipids)、2种糖脂 (glycolipids)、3种溶血磷脂 (lysophospholipids) 和约120种脂类分子的变化，探索了膜脂响应机械伤害的基本趋势。结果表明，机械伤害后磷脂酸 (phosphatidic acid，PA) 和3种溶血磷脂显著升高，而叶绿体膜上的糖脂减少；在测量的1小时范围内，不同脂类水解产生的磷脂酸分子的增加速度和强度不同，反映出它们经历了不同的生化过程。具体表现为：(1) 叶绿体膜脂磷脂酰甘油 (phosphatidylglycero，PG) 分子34∶4 PG水解的产物磷脂酸分子34∶4 PA的积累速度明显慢于其它磷脂酸分子；(2) 磷脂酸分子34∶6 PA仅有少量的积累，其可能是由叶绿体膜脂单半乳糖二酰甘油 (monogalactosyldiacylglycerol，MGDG)。分子34∶6 MGDG和双半乳糖二酰甘油 (digalactosyldiacylglycerol，DGDG) 分子34∶6 DGDG水解产生，然而这两种糖脂含量明显下降，说明它们有可能还参与了其它的反应。脂类的摩尔百分组成没有剧烈的变化。

**关键词**：机械伤害；脂类分子；脂类组学

**中图分类号**：Q 945　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253-2700 (2007) 06-671-06

# Profiling the Changes of Lipid Molecular Species in Response to Wounding in *Arabidopsis thaliana* (Cruciferae) by ESI-MS/MS

LING Li-Zhen[1,2,3]，LI Wei-Qi[3,4]**，XU Zheng-Jun[1,2]**

(1 *Rice Research Institute*，*Sichuan Agricultural University*，Wenjiang 611130，China；2 *Key Laboratory of Southwest Crop Gene Resources and Improvement*，*Ministry of Education*，*Sichuan agricultural University*，Yaan 625014，China；
3 *Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China；
4 *Department of Biology*，*Honghe University*，Mengzi 661100，China)

**Abstract:** This paper employed a sensitive approach based on electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) to comprehensively analyze lipid composition changes in response to mechanical wounding in *Arabidopsis thaliana*. The changes of 6 phospholipid classes，2 glycolipid classes，and 3 lysophospholipid，and 120 lipid molecular species in total depicted the basic tendency of membrane lipids in response to wounding for 0，15，30，and 60 min in *Arabidopsis thaliana*. The results showed that wounding can lead to increase phosphatidic acid (PA) and 3 lysophospholipid and decrease glycolipids of the major chloroplast plastidic lipids. The increasing speed and intensity of PA produced by various lipids are very different，which shows those lipids have experienced different biochemistry processes. (1) The accumulation of 34∶4 PA derived from plastidic lipid 34∶4 PG (phosphatidylglycerol) is significantly slower than that of other PA species；(2) 34∶6 PA accumulated a little and possibly derived from

---

* 基金项目：国家自然科学基金 (30670474)，国家科技基础条件平台工作项目 (2004DKA30430)，红河学院“分子生物学学科建设专项”。Use of the Kansas Lipidomics Research Center Analytical Laboratory and its support from National Science Foundation's EPSCoR program，under grant no. EPS-0236913 with matching support from the State of Kansas through Kansas Technology Enterprise Corporation and Kansas State University

** 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：weiqili@mail.kib.ac.cn；Tel：028-82727668 or 0871-5223025，zhengjunxu@hotmail.com

收稿日期：2007-03-05，2007-03-26 接受发表

作者简介：凌立贞 (1979-) 女，在读硕士研究生。

the 34∶6 MGDG or DGDG . However, the content of both glycolipids has apparently decreased, which indicated they are possibly involved in other reactions . No remarkable changes of lipid mole percentage were observed .

**Key words:** Mechanical wounding; Lipid molecular species; Lipidomics; *Arabidopsis thaliana*

虫害是严重危害农牧业生产的主要灾害之一，冰雹、暴风、骤雨等导致的机械伤害也是植物在自然界中常遇到的逆境。已有的研究表明，昆虫的咀嚼导致的伤害和机械伤害产生诱导相同的植物系统性反应 (布坎南等, 2003)。局部的损伤可通过植物的系统信号在整个植物诱导防御反应。

脂类在机械伤害诱导的信号过程和防御机制中起到重要的作用 (Creelman and Mullet, 1997; Grant and Lamb, 2006 )。膜脂是植物最早和最重要的损伤信号之一。植物系统防御信号物质茉莉酸起源于损伤诱导的膜脂降解产物亚麻酸 (Thompson 等, 1998; Penfield 等, 2006; Uemura 等, 1995; Gigon 等, 2004)。植物的脂类代谢及其脂肪酶 (lipolytic enzyme) 广泛地参与了植物的机械伤害反应过程 (Wound response)。例如磷脂酶 A (PLA) 和磷脂酶 D (PLD) 等 (Dhondt 等, 2000; Grant and Lamb, 2006)。Narváez-Vásquez 等 (1999) 通过实验证明番茄叶片伤害后 PLA2 的活性显著提高，水解产生的溶血磷脂迅速地响应机械伤害。这些数据说明了 PLA 主要是通过参与茉莉酸的合成而应答机械伤害。Ryu and Wang (1996, 1998) 在伤害的蓖麻叶片中检测到 PLD 的活性也大大提高了。Wang 等 (2000) 利用遗传学方法进一步证明了 PLDα1 在伤害诱导的茉莉酸积聚中发挥了作用。PLA2 水解膜脂主要生成溶血磷脂和脂肪酸，而 PLD 水解产物是磷脂酸和脂肪酸，最近的研究证明溶血磷脂和磷脂酸不仅仅是参与茉莉酸的合成，它们还是比较重要的生物活性物质，在植物生长发育过程以及在应答许多外界刺激中发挥着重要的作用 (Munnik 等, 1998; Ishii 等, 2004; Wang 等, 2006)。由于膜脂的分子组成十分复杂，其极性基团和非极性基团都可以发生变化，不同的膜脂分子具有不同的生物物理和化学性质、不同的亚细胞膜定位以及不同的生物学功能，因此，在分子水平上系统地分析植物响应机械伤害变化具有重要的意义。目前，分子水平上系统地描述机械伤害诱导的膜脂变化尚未见报道。

由于非水溶性等原因，脂类的分析在技术上一直是耗时费力的工作。新近在 ESI MS-MS 技术上建立的脂类组学方法，为脂类分析提供了高通量、灵敏、快速的分析手段 (Welti and Wang, 2004; Milne 等, 2006)。利用该方法成功地分析了拟南芥在常温、冷害、冻害、冻融过程中 11 类脂 120 种分子类的变化。(Welti 等, 2002; Li 等, 2004)。Buseman 等 (2006) 利用此技术分析了机械伤害对糖脂类的变化。本文以拟南芥为研究材料，以 ESI MS-MS 技术为测试手段，测量了植物在机械伤害 0、15、30、60 min 内 120 种膜脂分子的变化，探索了植物膜脂分子响应机械伤害的变化趋势，并发现了一些膜脂分子变化的特殊规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与处理

实验材料是拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 生态型 Wassilewskija，种植在温室内，光照为自然光，温度为 15～22℃，相对湿度 60%。种植 5 周后处理、取样。选取成熟、叶龄相同的叶片，用止血钳在跨过叶片中脉的范围垂直夹三下做机械伤害，伤害面积为整个叶片的 1 3～1 2。在机械伤害 0、15、30、60 min 时收集叶片提取脂类。每个伤害时间点取样 5 个重复。

### 1.2 脂类的提取

脂类的提取方法在文献 (Welti 等, 2002) 的基础上作了少许改进。从叶柄处剪下伤害处理过的叶子 1 片，立即放入 1.5 ml 75℃异丙醇 (含 0.01% BHT) 中 15 min，再加入 1.5 ml 氯仿和 0.6 ml 水，在摇床上振荡提取 1 h，转移提取液；然后加入 4 ml 氯仿 - 甲醇溶液 (2∶1，含 0.01% BHT) 摇床上提取过夜直到叶子发白。再用 1 ml 氯仿 - 甲醇溶液清洗叶片两次，以保证提取液转移干净；合并提取液后，加入1 ml 1 mol/L KCl 溶液，涡旋混匀，静置分层，弃去上层液；再加入 1 ml 水，涡旋混匀，静止分层，弃去上层液。提取液用氮气吹干，保存在 - 20℃冰箱备用。提取剩余物在 105℃烘箱中过夜，放置到室温时，称干重。

### 1.3 脂类的测定

采用 ESI/MS-MS 测定，具体的程序参照文献 (Welti 等, 2002) 的方法。

### 1.4 数据分析

利用 Q-test 剔除极端离散的数值后在 Microsoft Excel 中计算平均值和标准偏差。最后在 $P = 0.05$ 的水平上进行 T-test 检测处理间的数据显著性。脂类数据在排除离散值后通过 origin 软件作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 机械伤害诱导的总膜脂水平降低，但磷脂酸和溶血磷脂水平升高

实验检测了拟南芥在机械伤害 0～60 min 之内的 6 类磷脂（PG，PI，PS，PE，PC，PA）、两类糖脂（MGDG，DGDG）和三类溶血磷脂（lysoPC，lysoPE，lysoPG），共计 120 种脂类分子的水平变化（表 1、表 3、图 1）。在伤害后，植物总的脂类水平呈现下降趋势，与对照相比较，伤害 60 min 后叶片脂类水平下降了17. 7% (39.55 nmol/mg DW) (表1)。其中总磷脂水平基本不受伤害影响，总糖脂下降，总溶血磷脂上升 1 倍。三类膜脂在数量级上差异很大，糖脂约是磷脂的 5 倍、溶血磷脂的 1 000 倍，所以伤害诱导的脂类下降主要来自糖脂的贡献。脂类的相对组成变化为磷脂和溶血磷脂相对含量呈现上升趋势，糖脂的相对含量呈下降趋势（表 2）。由于糖脂是叶绿体膜脂，因此上述结果说明叶绿体膜在机械伤害过程中反应敏感，伤害较重。

磷脂的种类最多，不同磷脂对胁迫敏感不同。检测的结果表明，多种 PA 分子种类加和后得到的最终 PA 水平在机械伤害中从0.4 nmol/mg DW 上升到 4.17 nmol/mg DW，急剧上升了 10 倍（图 1，表 1）；相对含量从 0.18%上升到 2.23%，上升了 13 倍。PC、PE 和 PG 也呈现了一些变化，PC、PG 有下降的趋势。PI 和 PS 几乎保持不变。上述结果与其它报道的结果基本吻合，特别是 PA 的变化，PA 对机械伤害最为敏感（Lee 等，1997；Zien 等，2001）。一些报道 PE 水平在伤害中有明显的下降，这与我们的结果不完全一致（Zien 等，2001）。这可能与实验中植物的培养条件不同有关。Zien 等（2001）报道植物的种植条件不同可引起脂类含量变化。

### 2.2 产生于叶绿体膜磷脂 PG 水解的磷脂酸分子 34∶4 PA 水平的升高迟于其它磷脂酸分子

基于ESI-MS/MS的脂类组学方法的优点是能够检测个别脂类分子的变化细节。9 种磷脂酸分子被检测到发生了变化（图 1）。磷脂酸产生的一个主要生化途径是其它甘油脂的水解，通过对比甘油脂（glycerolipid）中脂肪酸链的结构，可以推测磷脂酸分子是由哪种甘油脂水解产生的。34∶2（acyl carbon∶double bond）的 PA 分子，只可能产来源于具有相同脂肪酸结构的 PG，PI，PS，PE 或 PC 的水解。34∶4 PA 和 34∶6 PA 有些特殊，因为它们只可能分别来自 34∶4 PG 和 34∶6 MGDG 或 DGDG 的水解，因为这些脂类都是位于叶绿体膜上的脂类。比较检测的这 9 种脂酸分子在伤害 60 min 内的变化，发现 34∶4 PA 在伤害开始的 15 min 内没有变化，与对照保持一致的水平（对照 0.042 nmol/mg, 15 min 时 0.046 nmol/mg) , 而其它 8 种 PA 分子已经上升了 5 倍。伤害处理 30 min 后，34∶4 PA 才赶上其它 PA 分子的水平。说明从叶绿体膜脂分子 34∶4 PG 到 34∶4 PA 的水解反应要慢于其它脂类产生 PA 的反应，这个结果提示了机械伤害过程中细胞内部膜脂水解过程的差异性。

表 1　脂类在不同伤害时间的变化 ( nmol/mg dry weight or nmol/mg DW)

Table 1 The changes in lipid classes in wounded *Arabidopsis* leaves ( nmol/mg DW)

| 脂类 | Control | 15 min | 30 min | 60 min |
|---|---|---|---|---|
| 磷脂类 (PL) | | | | |
| PG | 11.20±1.44 | 9.83±1.76 | 10.51±1.47 | 10.61±0.71 |
| PI | 2.28±0.28 | 2.37±0.32 | 2.47±0.12 | 2.56±0.48 |
| PS | 0.27±0.06 | 0.33±0.09 | 0.33±0.09 | 0.29±0.06 |
| PE | 4.37±1.05 | 6.37±1.06 | 5.11±1.52 | 4.74±1.21 |
| PC | 13.94±1.62 | 12.92±1.42 | 12.79±1.94 | 12.03±2.05 |
| PA | 0.40±0.06 | 2.28±0.44$^{*}$ | 2.98±0.36$^{*}$ | 4.17±1.32$^{*}$ |
| lysoPG | 0.06±0.01 | 0.04±0.01 | 0.06±0.02 | 0.08±0.03 |
| lysoPC | 0.05±0.02 | 0.08±0.02 | 0.08±0.03 | 0.11±0.03$^{*}$ |
| lysoPE | 0.02±0.00 | 0.03±0.00$^{*}$ | 0.02±0.01 | 0.04±0.01$^{*}$ |
| 糖脂类 (GL) | | | | |
| MGDG | 159.37±3.53 | 127.17±10.92$^{*}$ | 133.41±15.30$^{*}$ | 121.61±28.39$^{*}$ |
| DGDG | 35.98±1.24 | 29.75±1.85$^{*}$ | 30.90±2.92$^{*}$ | 30.42±2.21$^{*}$ |
| Total PL | 32.58±4.39 | 34.24±3.78 | 34.39±4.51 | 34.63±5.31 |
| Total GL | 195.69±4.50 | 156.92±12.76$^{*}$ | 164.31±18.16$^{*}$ | 149.30±34.61$^{*}$ |
| Total lysoPL | 0.12±0.03 | 0.15±0.04 | 0.15±0.06 | 0.22±0.07 |
| Total | 223.48±15.52 | 191.16±13.91$^{*}$ | 198.70±22.60 | 183.93±36.17 |

表 2 脂类不同伤害时间的摩尔组成的变化 (mol %)

Table 2 The Changes of lipid classes in mole percentage in wounded *Arabidopsis* leaves (mol %)

| 脂类 | Control | 15 min | 30 min | 60 min |
|---|---|---|---|---|
| **磷脂类** (PLs) | | | | |
| PG | 4.99±0.39 | 5.15±0.91 | 5.28±0.20 | 5.34±0.28 |
| PI | 1.02±0.09 | 1.24±0.12 | 1.26±0.17 | 1.25±0.17 |
| PS | 0.11±0.01 | 0.18±0.06 | 0.17±0.04 | 0.06±0.02 |
| PE | 1.97±0.58 | 3.34±0.59* | 2.55±0.64 | 2.58±0.39 |
| PC | 6.23±0.42 | 6.77±0.71 | 6.42±0.33 | 6.77±1.97 |
| PA | 0.18±0.03 | 1.19±0.19* | 1.51±0.25 | 2.35±0.97 |
| lysoPG | 0.02±0.01 | 0.02±0.01 | 0.03±0.01 | 0.04±0.01 |
| lysoPC | 0.002±0.001 | 0.04±0.00* | 0.04±0.02 | 0.06±0.01* |
| lysoPE | 0.01±0.00 | 0.01±0.00 | 0.01±0.01 | 0.02±0.00* |
| **糖脂类** (GLs) | | | | |
| MGDG | 69.30±0.93 | 66.49±1.72 | 67.27±0.11* | 67.34±0.57 |
| DGDG | 16.13±0.77 | 15.57±0.28 | 15.58±0.43 | 14.97±1.36 |
| Total PLs | 14.51±1.49 | 17.86±2.46 | 17.18±1.60 | 19.29±5.14 |
| Total GLs | 85.43±1.70 | 82.06±1.97 | 82.72±0.73* | 82.75±1.65 |
| Total lysoPL | 0.05±0.02 | 0.08±0.02 | 0.10±0.06 | 0.12±0.04* |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 |

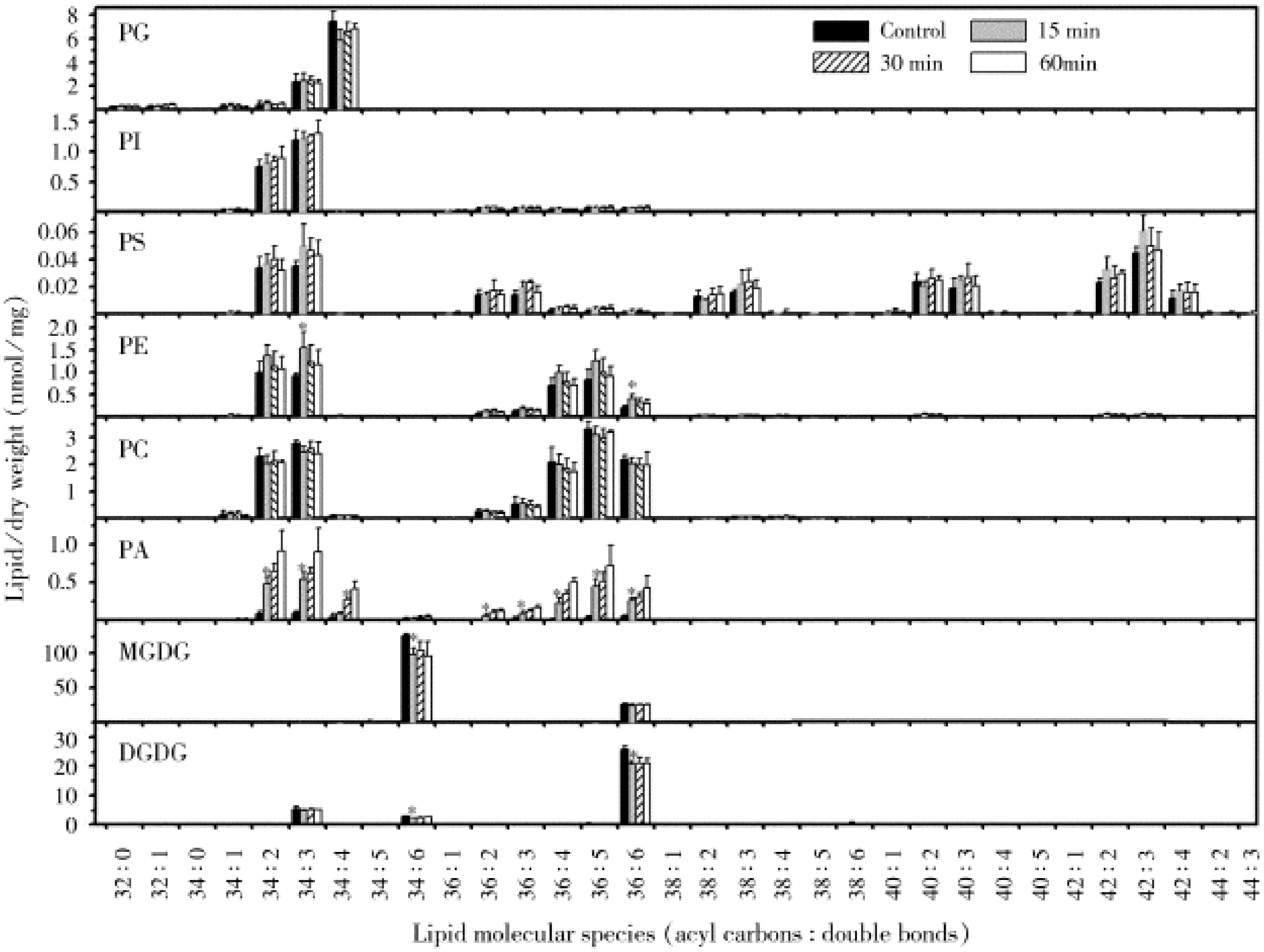

图 1 拟南芥中机械伤害诱导的脂类分子变化

Fig. 1 Wound-induced changes in lipid molecular species in *Arabidopsis*

The first black bars represent unwounded leaves, the second gray bars, the third bars (downward cross-hatch), the forth white bars represent 15 min, 30 min and 60 min after wounding respectively. The value is the means + SD ( $n = 5$ ). ‘ * ’ indicates the difference in that particular lipid species in unwounded and wounded-leaves is significant ( $p < 0.05$ ).

表 3　溶血磷脂类的变化（nmol/mg dry weight）

Table 3　The changes in lysophospholipids in wounded *Arabidopsis* leaves

| 溶血磷脂膜脂分子 | Control | 15 min | 30 min | 60 min |
|---|---|---|---|---|
| lysoPG | | | | |
| 16∶0 | 0.008±0.004 | 0.005±0.004 | 0.007±0.004 | 0.016±0.003 |
| 16∶1 | 0.005±0.004 | 0.008±0.007* | 0.016±0.005* | 0.023±0.003* |
| 18∶1 | | | | |
| 18∶2 | 0.002±0.002 | 0.002±0.002 | 0.003±0.004 | 0.005±0.004 |
| 18∶3 | 0.039±0.014 | 0.026±0.005 | 0.033±0.012 | 0.041±0.023 |
| lysoPE | | | | |
| 16∶0 | 0.005±0.001 | 0.008±0.001* | 0.006±0.004 | 0.014±0.002* |
| 16∶1 | | | | |
| 18∶1 | | | | |
| 18∶2 | 0.006±0.002 | 0.012±0.003* | 0.008±0.006 | 0.011±0.006 |
| 18∶3 | 0.004±0.002 | 0.008±0.003 | 0.006±0.003 | 0.009±0.001* |
| lysoPC | | | | |
| 16∶0 | 0.006±0.006 | 0.009±0.007 | 0.011±0.009 | 0.016±0.009 |
| 16∶1 | | | 0.001±0.001 | 0.001±0.001 |
| 18∶0 | | 0.001±0.001 | 0.002±0.003 | 0.001±0.001 |
| 18∶1 | 0.002±0.002 | 0.004±0.002 | 0.004±0.003 | 0.004±0.003 |
| 18∶2 | 0.016±0.006 | 0.026±0.007 | 0.032±0.016 | 0.035±0.010* |
| 18∶3 | 0.025±0.004 | 0.037±0.006* | 0.042±0.010 | 0.050±0.007 |

### 2.3　来源于叶绿体膜脂的磷脂酸分子 34∶6 PA 少量产生

在正常状态下，细胞中没有 34∶6 PA 分子。34∶6 PA 的产生在冻害过程中首次被发现并推断其来源于 34∶6 MGDG 水解（Welti 等，2002）。分析发现机械伤害也能诱导 34∶6 PA 产生（图 1），但是其含量比磷脂水解的其它 PA 类分子要低，比冻害和缺水诱导的 34∶6 PA 也少得多（Li 等，2004；Welti 等，2002）。机械伤害诱导的 34∶6 PA 可能不仅来源于 34∶6 MGDG，也可能来自 34∶6 DGDG，因为这两种分子含量都降低了。然而从化合物的摩尔质量上看，34∶6 PA 只有少量的积聚（低于 0.5 nmol/mg），而 34∶6 MGDG 和 34∶6 DGDG 却发生了大幅度的下降，在 15 min 时已经出现了明显的下降（MGDG 0 min 126.155，15 min 98.294；DGDG 0 min 2.782，15 min 2.268）其中 MGDG 变化比 DGDG 大。这些数据说明 34∶6 DGDG 和 34∶6 MGDG 可能参与了其它生化途径。Buseman 等（2006）发现拟南芥遭受机械伤害后会导致一些含有氧代植物二烯酸（12-oxophytodienoic acid，12-OPDA）或二氢氧代植物二烯酸（12-dioxophytodienoic acid，12-OPDA）的 MGDG 和 DGDG 在拟南芥体内的积聚，而这些化合物是合成茉莉酸前体物质 OPDA 的中间代谢物质。

### 2.4　其它脂类分子的变化

糖脂 MGDG 和 DGDG 主要是两个酰基成分均为不饱和脂肪酸链 34∶6（18∶3 和 16∶3）和 36∶6（18∶3 和 18∶3）明显下降（图 1），而磷脂酸除了不饱和的脂肪酸酰基链 36∶5（18∶2 和 18∶3）和 36∶6（18∶3 和 18∶3）发生明显增加外，相对饱和的酰基成分（34∶2，34∶3，34∶4，36∶2，36∶3，36∶4）也明显增加。溶血磷脂类的酰基成分变化均表现明显上升（表 3）。磷脂中除 PE（34∶3，36∶6）在 15 min 出现短暂上升外，其他的磷脂没有太大的变化。总之，所有变化的磷脂和糖脂类酰基成分主要集中于 34 和 36 个碳原子上。

## 3　小结

组学方法研究植物对胁迫的响应，能够从较大的尺度上探索生物学现象之间可能的联系。基因组学、代谢组学、脂类组学对植物响应低温胁迫的研究提供了很好的示范（Seki 等，2002；Cook 等，2004；Welti 等，2002）。本文通过 ESI-MS/MS 技术方法，系统地检测拟南芥在机械伤害 1 小时内 120 种膜脂分子的变化规律。结果表明机械伤害能够导致植物糖脂 MGDG 含量下降，磷脂中磷脂酸 PA 和溶血磷脂的上升。这一脂类变化的基本趋势与其它方法测量的结果相符合。PA 和 lyso-PL 的含量明显升高，验证了磷脂酶 PLD 和 PLA 参与了机械伤害诱导的植物信号过程的结论。

ESI-MS/MS 提供详细而灵敏的膜脂分子变化数据，使得我们发现了 PA 分子的两处精细、显著而又有意义的变化，即：(1) 来自叶绿体膜脂分子 PG 水解产物的 34∶4 PA 的上升，在时间上明显迟缓于其它产生的 PA 分子，这说明了机械伤害诱导的质膜和亚细胞器膜的反应有时间上的差异；(2) 可能来自叶绿体膜糖脂 MGDG 和 DGDG 水解产物的 34∶6 PA 分子有显著的升高，但是绝对含量还很低，低于来自质膜磷脂水解的其它 PA 类分子，也明显低于冻害和缺水诱导的该分子含量。这两个 PA 分子含量的特殊变化提示了产生 PA 的水解反应在伤害诱导细胞的过程中有时间和空间上的差异，但是它所代表的明确生物学意义还有待进一步探索。

## 〔参 考 文 献〕

布坎南等编，翟礼嘉等译，2003. 植物生化化学与分子生物学 [M]. 科学出版社，940

Buseman CM, Tamura P, Sparks AA *et al*. 2006. Wounding stimulates the accumulation of glycerolipids containing oxophytodienoic acid and dinor-oxophytodienoic acid in *Arabidopsis* Leaves [J]. *Plant Physiol*, **142**: 28—39

Creelman R, Mullet J, 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **48**: 355—381

Cook D, Fowler S, Fiehn O *et al*. 2004. A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolism of *Arabidopsis* [J]. *PNAS*, **101**: 15243—15248

Dhondt S, Geoffroy P, Stelmach BA *et al*. 2000. Soluble phospholipase . A2 activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes [J]. *The Plant Journal*, **23** (4): 431—440

Gigon A, Matos AR, Laffray D *et al*. 2004. Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia) [J]. *Ann Bot*, **94**: 345—351

Grant M, Lamb C, 2006. Systemic immunity [J]. *Curr Opin Plant Biol*, **9**: 414—420

Ishii I, Fukushima N, Ye XQ *et al*. 2004. Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biology [J]. *Annu Rev Biochem*, **73**: 321—354

Lee S, Suh S, Kim S *et al*. 1997. Systemic elevation of phosphatidic acid and lysophospholipid levels in wounded plants [J]. *Plant J*, **12**: 547—556

Li WQ, Li MY, Zhang WH *et al*. 2004. The plasma membrane-bound phospholipase Dδ enhances freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Biotech*, **22**: 427—433

Milne S, Ivanova P, Forrester J *et al*. 2006. Lipidomics: an analysis of cellular lipids by ESI-MS [J]. *Methods*, **39**: 92—103

Munnik T, Irvine RF, Musgrave A, 1998. Phospholipid signalling in plants [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1389**: 222—272

Narváez-Vásquez J, Florin-Christensen J, Ryan CA, 1999. Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin, and oligosaccharide elicitors in tomato leaves [J]. *Plant Cell*, **11**: 2249—2260

Penfield S, Li Y, Gilday AD *et al*. 2006. Arabidopsis ABA INSENSITIVE4 Regulates Lipid Mobilization in the Embryo and Reveals Repression of Seed Germination by the Endosperm [J]. *The Plant Cell*, **18**: 1887—1899

Ryu SB, Wang XM, 1996. Activation of phospholipase D and the possible mechanism of activation in wound-induced lipid hydrolysis in castor bean leaves [J]. *Biochimica et Biophysics Acta*, **1303**: 243—250

Ryu SB, Wang XM, 1998. Increase in free linolenic and linoleic acids associated with phospholipase D-mediated hydrolysis of phospholipids in wounded castor bean leaves [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1393**: 193—202

Seki M, Narusaka M, Ishida J *et al*. 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray [J]. *The Plant Journal*, **31**: 279—292

Thompson JE, Froese CD, Madey E *et al*. 1998. Lipid metabolism during plant senescence [J]. *Prog Lipid Res*, **37** (2/3): 119—141

Uemura M, Joseph RA, Steponkus PL, 1995. Cold acclimation of *Arabidopsis thaljana* effect on plasma membrane lipid composition and freeze-lnduced lesions [J]. *Plant Physiol*, **109**: 15—30

Wang CX, Zien CA, Afitlhile M *et al*. 2000. Involvement of phospholipase D in wound-Induced accumulation of Jasmonic Acid in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, **12**: 2237—2246

Wang XM, Devaiah SP, Zhang WH *et al*. 2006. Signaling functions of phosphatidic acid [J]. *Progress in Lipid Research*, **45**: 250—278

Welti R, Li WQ, Li MY *et al*. 2002. Profiling membrane lipids in plant stress responses: role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, **277** (35): 31994—32002

Welti R, Wang XM, 2004. Lipid species profiling: a high-throughput approach to identify lipid compositional changes and determine the function of genes involved in lipid metabolism and signaling [J]. *Curr Opinion Plant Biol*, **7**: 337—344

Zien CA, Wang CX, Wang XM *et al*. 2001. *In vivo* substrates and the contribution of the common phospholipase D, PLDα, to wound-induced metabolism of lipids in *Arabidopsis* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1530**: 236—248